In the name of Allah, the Most Gracious, the Most Merciful















Les proteines plasmatiques

Pr. B.AIT ABDELKADER
CPMC

GENERALITES

1.Définition :Les protéines sont des grosses molécules non dialysables de masse moléculaire supérieure à 100 kda constituées par un enchaînement d'acides aminés globulaires (sauf fibrinogène).
Ce sont les constituants les plus abondants du plasma (5000 et 20000).

2. Historique : Historiquement ont d'abord été étudiées les protéines totales, puis la sérum albumine et la sérum-globuline qui en ont été séparées.

Quant le poids moléculaire des chaînes polypeptides atteint au moins 10000 (une centaine d'acides aminés), celles-ci acquièrent un ensemble des propriétés physiques qui les distinguent des peptides plus courts.
On a à faire à des macromolécules appelées protéines.

3. Structurale

Plus de 300 protéines plasmatiques différentes (isolables à l'électrophorèse en 2D)

4.Origine: L'organisme synthétise lui-même ses protéines sériques.

Celles-ci proviennent essentiellement de l'alimentation qui sont successivement dégradées en polypeptides, puis en acides aminés à partir desquels l'organisme compose ses propres protides.

Dans les carences nutritionnelles, l'organisme puise les éléments aminés qui lui sont nécessaires dans ses propres réserves, constituées principalement par les muscles.

Toutes les protéines, qu'elles proviennent de l'alimentation ou des réserves de l'organisme, subissent obligatoirement une série de dégradation et ce n'est que secondairement que s'effectue la synthèse de celles qui sont spécifiques du milieu sanguin.

5.Formation.

La diversité des protéines implique une spécialisation des organes chargés de leur élaboration.

sous le contrôle général des glandes endocrines, le foie ferait la synthèse de l'albumine ainsi que du fibrinogène

la synthèse des gamma globulines serait effectuée par le systéme reticulo-endotheliale.

Propriétés physico-chimiques

1. Solubilité :

Solubles dans le plasma car c'est une solution aqueuse de pH et de force ionique convenable.

Classiquement, on distingue deux groupes de protéines selon leur solubilité dans une solution aqueuse de sulfate d'ammonium à demi saturation :

**Les globulines qui précipitent à 50% de saturation.

**L'albumine qui précipite pour des concentrations supérieures à 50%.

Il y a donc une séparation possible, entre l'albumine et les globines, par précipitation.

2. Masse molaire :

Les protéines sériques, dans l'ensemble, sont non dialysables donc, pour la plupart ne filtrent pas au niveau du glomérule, sauf les petites protéines qui sont ensuite réabsorbées.

Les protéines sont séparables par ultracentrifugation et par chromatographie d'exclusion.

3. Ionisation :

Caractère amphotère des protéines.

Le pHi d'une protéine est le pH pour lequel la protéine placée dans un champ électrique ne migre pas car sa charge globale est nulle.

Rôles des protéines plasmatiques

- **Les protéines ont 7 grandes fonctions**

pression oncotique	Toutes les protéines Albumine +++, Globulines
Transport	Albumine (transporteur non sécifique) lipoprotéines: lipides
hormonale	**Rénine-Angiotensine**
Immunité	Immunoglobulines, Complément
Coagulation	Facteurs de la coagulation, fibrinogéne
Enzymes	Transaminases, etc… Orosomucoide: Coenzyme de la LPL
anti protéases	α1-antitrypsine, cystatines, α1antichymotrypsine, α2-macroglobuline

Fonction de transport.

Protéine Sérique	Molécule(s) Transportée(s)
Transferrine	Fer
Céruléoplasmine	Cuivre
Sérum-Albumine	Acides gras libres, Bilirubine non conjuguée, Médicaments
RBP (retinol binding protein)	Vitamine A
Haptoglobine	Hémoglobine
Transcortine	Cortisol
SHBG (Sex Hormon Binding Globulin)	Hormones Sexuelles
Lipoprotéines	Lipides

Généralités

Le sang est le liquide biologique le plus exploré.

Milieu très riche en protéines : 22%

* Il représente 6 à 8 % du poids corporel (chez un adulte de 70 kg : 5kg)
Son volume est voisin de 5 litres

- Densité d=1,060

- Ph = 7,40

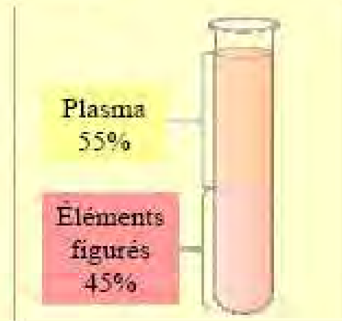
* Point de congélation =- 0,54°

Le sang





- **un liquide :**
  - le plasma
- **des éléments figurés:**
  - globules rouges
  - globules blancs
  - plaquettes

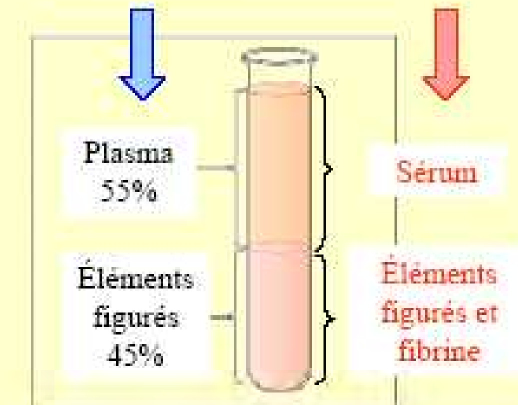


Composition du plasma

- de l'eau (+/- 90%)
- des éléments dissous:
  - ions (Na^+, K^+, Cl^-, $Ca2^+$)
  - métabolites, vitamines,
  - hormones
  - déchets (urée), etc.
- des protéines (7 à 9%):
  - albumine, α1, α2, β et γ globulines
  - Fibrinogène
  - protéines de l'inflammation
  - etc.
- des gaz: O_2, CO_2

Tube Anticoagulé
EDTA, Héparine, fluorure, ACD, …

Tube Sec





Dosage des protéines totales

Différentes méthodes à sensibilité et à praticabilité differentes.

- **1.2.2.1. Méthode du biuret**
  Méthode classique, pas très sensible mais facile à pratiquer

- **1.2.2.2. Méthode de Lowry**

au réactif de Folin-Ciocalteu

- **1.2.2.3. Méthode de Kjeldahl**
  Très précise mais très longue. Passe par le dosage de l'azote

- **1.2.2.4. Réfractométrie**
  Se base sur la proportionnalité entre réfraction et teneur en macromolécules

Concentrations

On va ainsi classer les protéines en fonction de leur concentration plasmatique:

- protéines prédominantes; **10-40g/l** Albumine(Alb), immunoglobuline G (IgG)
- protéines majeures **:1-10g/l** Fibrinogène(Fib), Transferrine (Tf), IgA, IgM
- protéines mineures : **0,1-1g/l** , plasminogène
- protéines traces **:< 0,1g/l** CRP, IgE, rétinol binding protein (RBP)

Variations physiologiques: Normes de 60 à 80 g/L

- Dans le plasma cette valeur est majorée d'environ 3 g/l car il contient le fibrinogène et l'ensemble des protéines de la coagulation.
- Age:

  chez le nouveau né, la concentration en protéines est inférieure de 20% à celle de l'adulte.
- Grossesse: l'augmentation du volume sanguin entraîne une baisse de 10%.
- **Une valeur NORMALE de Protides totaux n'exclut pas la présence d'une anomalie (dysprotéinémie)**

Variations pathologiques

Hyper-protidémies absolues : Ig et Fib

- Par augmentation des Ig:
  maladie de Kahler: augmentation IgA, IgG, IgD ou IgE

  maladie de Waldenstrom: augmentation IgM

  => ce sont des g-pathies

- Par augmentation du fibrinogène:
  hyperfibrinogènémie, notamment dans les syndromes inflammatoires

- **Hypo-protidémies absolues : Alb et Ig**

par carence d'apport alimentaire en protéines (malnutrition, déséquilibre en AA)
par malabsorption intestinale (insuffisance pancréatique)
par diminution de la synthèse, en cas d'insuffisance hépatique
par catabolisme exagéré dans les dénutritions sévères
par augmentation des pertes:

- d'origine rénale (syndrome néphrotique)
- d'origine cutanée (brûlures)
- d'origine digestive (entéropathie exsudative)

Le tableau associe syndrome d'hypoprotidémie avec œdèmes, anomalies de la peau et des phanères.

Variations relatives

- Elles sont liées à des modifications dans l'état d'hydratation du sujet.

- Hyper-protidémie par hémoconcentration:
Se voit dans les DEC= déshydratation extra-cellulaire

- Hypoprotidémie par hémodilution:
Se voit dans les HEC= hyper hydratation extra-cellulaire

1.2.4. Fractionnement des protéines

Albumines: solubles
Globulines: insolubles

On peut calculer le rapport albumine/globulines (A/G)

- **le rapport albumine/globulines** (normalement compris entre **1,2 et 1,8)** est le même chez l'enfant et l'adulte.

la perturbation de la volémie perturbe la protidémie

- **Le rapport albumine/globulines** sera inversé **(inférieur à 1)** par diminution de l'albumine et/ou augmentation concomitante des globulines (cirrhose)
- **Il sera supérieur à 2** par diminution des globulines(hypo- ou agammaglobulinémie).

Méthodes de séparation : électrophorése

Elles se fondent sur la charge électrique des protéines en solution et sur leur mobilité.
Les protéines, substances amphotères, possèdent à la fois des charges positives et négatives selon le pH de la solution.

la migration des protéines sous l'influence du champ électrique sera donc fonction du pH.

A un pH déterminé, des protéines différentes migreront de façon distincte.

Comme **support** on utilise souvent **l'acétate de cellulose**, le **gél d'agarose** ou du **gel de polyacrylamide**

ELECTROPHORESE DES PROTEINES SERIQUES

- Examen simple mais non adapté a l'urgence
- Appréciation qualitative des différentes fractions du protidogramme .
- Délai de modifications : Très lent et peu spécifique
- Intérêt: diagnostic , et suivi des maladies
- Examen peu sensible mais permet d'objectiver divers profils electrophoretiques tels :

- Gammapathie monoclonale.
- bloc β-γ évocateur d'une cirrhose .
- Syndrome inflammatoire aigues ou chroniques .
- Syndrome néphrotique.
- Déficit immunitaire.

- **Electrophorèse de zone : on obtient après migration une séparation** en zones distinctes des molécules chargées de la solution déposée.

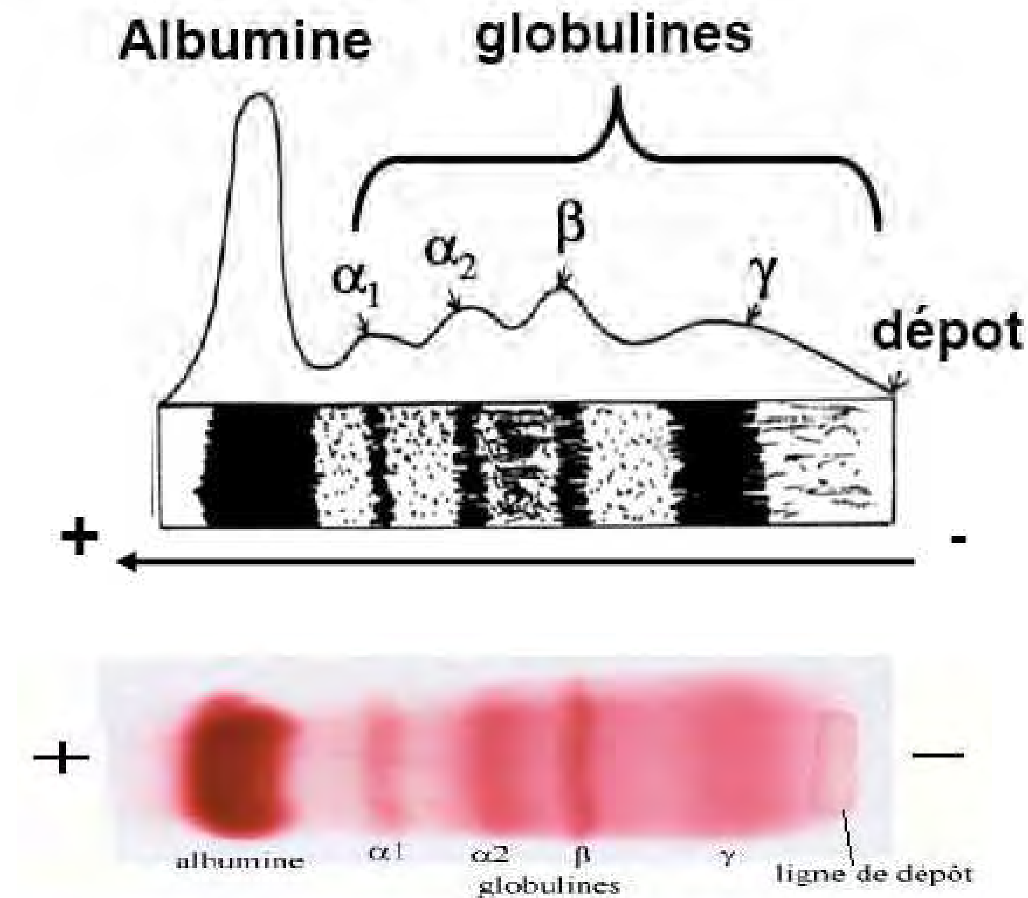
on obtient 5 fractions, Albumine,α1globuline,α2 globuline,β globulines et γ globulines chacune correspond à une famille protéique.

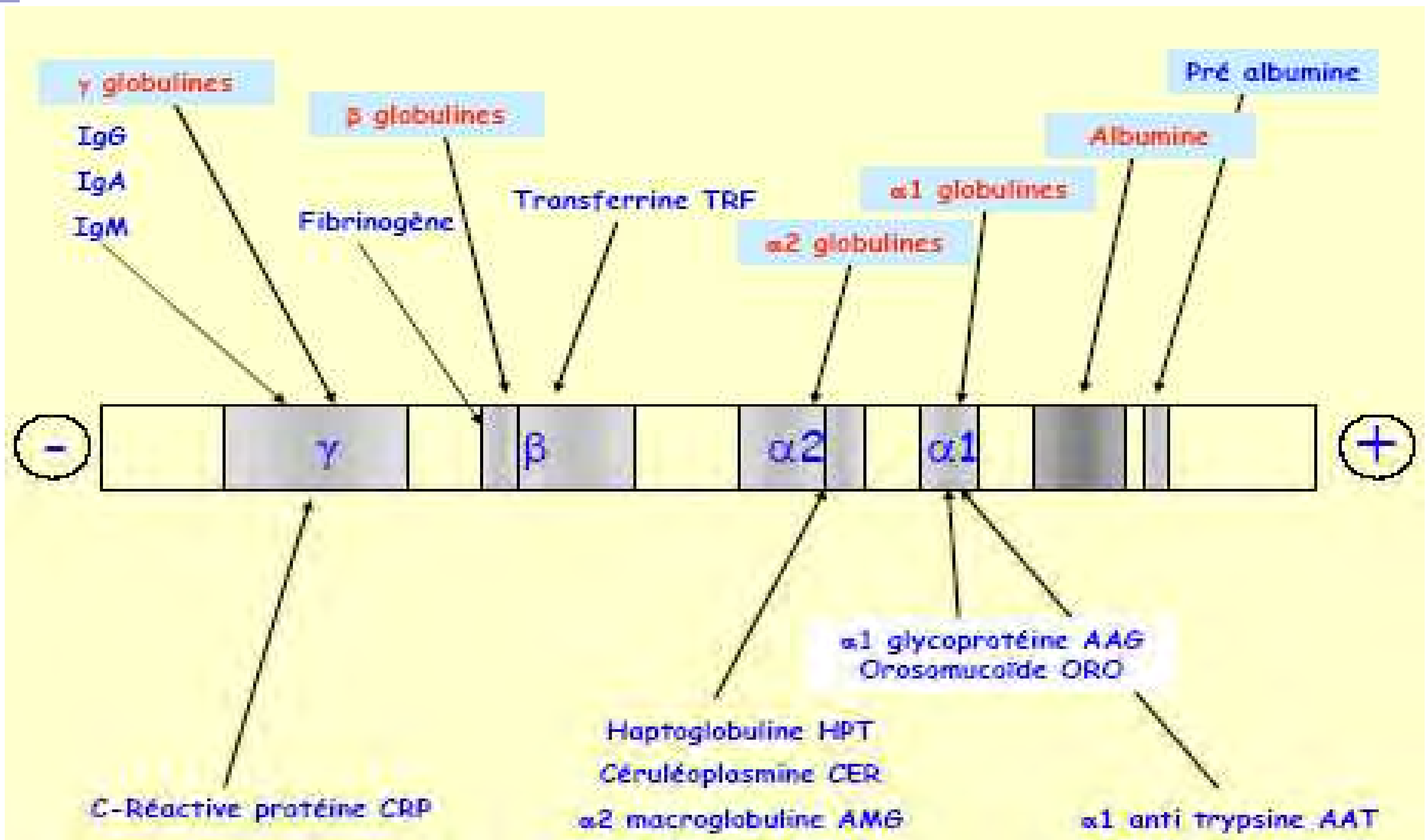
- **Support : acétate de cellulose**
- **Tampon : tampon véronal à pH = 8,6.**
- **Migration : 15 minutes à 180 volts.**

A pH = 8,6 toutes les protéines sériques ont une charge globale négative et migrent vers l'anode (pôle positif). Le dépôt est réalisé côté cathode.

Plus la concentration en protéines est forte dans une portion de gel, plus la coloration est forte. On peut donc évaluer les concentrations des différentes catégories de protéines par mesure optique de la densité de coloration sur la bande.

Electrophorèse sur acétate de cellulose ou en gel d'agarose




γ globulines
IgG
IgA
IgM
β globulines
Fibrinogène
Transferrine TRF
α2 globulines
α1 globulines
Albumine
Pré albumine
-
γ
β
α2
α1
+
C-Réactive protéine CRP
Haptoglobuline HPT
Céruléoplasmine CER
α2 macroglobuline AMG
α1 glycoprotéine AAG
Orosomucoïde ORO
α1 anti trypsine AAT

INTERPRETATION

Migration	Protéines
α_1	Orosomucoïde α1 antitrypsine
α_2	Céruloplasmine α2 macroglobuline Haptoglobine α-lipoprotéines
β_1	Transferrine
β_2	C3 β-lipoprotéines
γ	IgA IgG IgM CRP

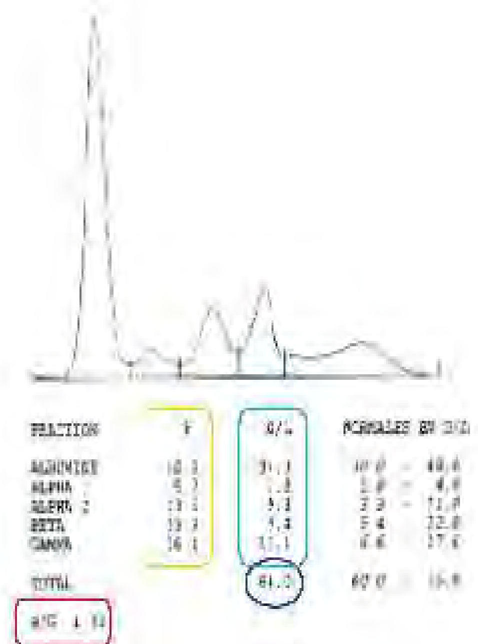
Expression des résultats

Protéines totales

Analyse densitométrique
-> % chaque fraction

Calcul -> concentration
de chaque fraction

Calcul du rapport Albumine/globulines



L'électrophorèse capillaire

Est une microtechnique destinée à l'analyse qualitative et quantitative de solutions complexes, à partir d'échantillons de très faible volume.

C'est une miniaturisation de l'électrophorèse

La séparation des protéines comporte 6 zones :

albumine, α1, α2, β1, β2, et γ-globulines le sens de migration des fractions protéiques est inversé par rapport a l'electrophorése classique

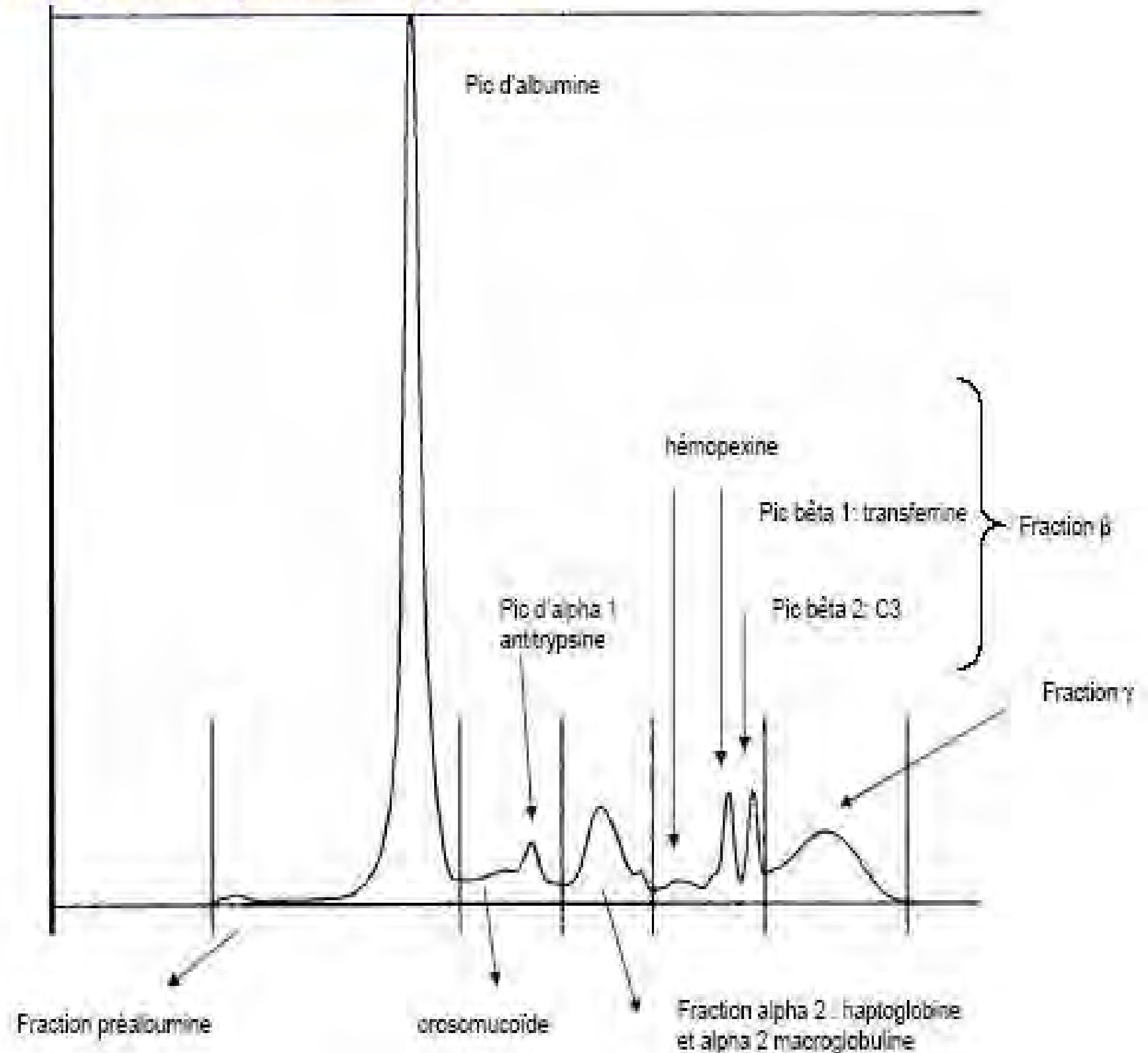
L'injection se fait à l'anode,

la détection UV à la cathode et les γ-globulines sont la première fraction détectée.

profil normal en électrophorèse capillaire

Avantages

- **Précision**
- **Rapidité**
- **Automatisation**
- **Stockage des résultats**



L'électrophorèse doit obligatoirement être complétée par le dosage quantitatif des protéines totales du sérum, car toute l'interprétation d'un protéinogramme suppose en premier lieu la connaissance des variations physio-pathologiques de la protidémie.

Autres applications des Electrophorèses des protéines :

- protéines Urinaires (nécessitent une concentration élevée dans la plupart des cas)
- Protéines du LCR
-pour d'autres protéines du sang tels électrophorèses des : Hémoglobines, Iso-LDH ,Iso-CK ou Lipoprotéines (lipidogramme).

Immunoélectrophorèse

Mettant en jeu une séparation électrophoretique des protéines dans un gel d'agarose suivie d'une double diffusion contre un antisérum.

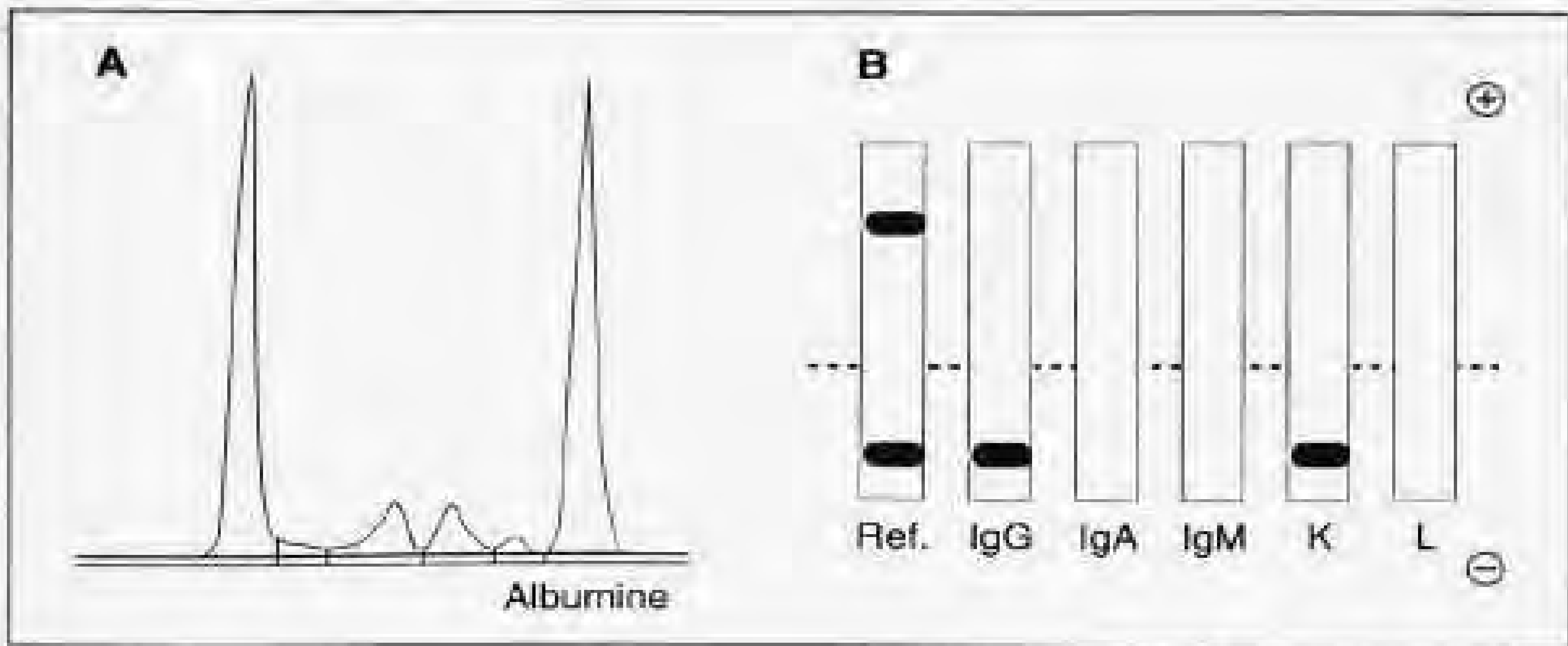
Chaque zone d'équivalence correspondant à un précipité Ag-Ac se traduit par un arc de précipitation.

Elle est utilisée surtout pour les immunoglobulines.

Cette technique permet donc de caractériser des composants monoclonaux préalablement identifiés sous la forme d'un pic homogène à l'électrophorèse classique .

Immunofixation ou immunoélectrophorèse

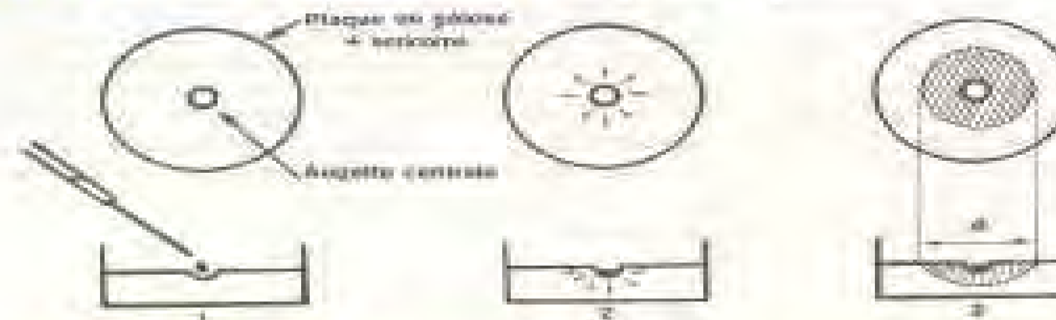
Est réalisée après la détection d'un pic monoclonal a l'electrophorese classique.
Permet le typage des immunoglobulines monoclonales exp dans la maladie de Kahler ou dans Maladie de Waldenström



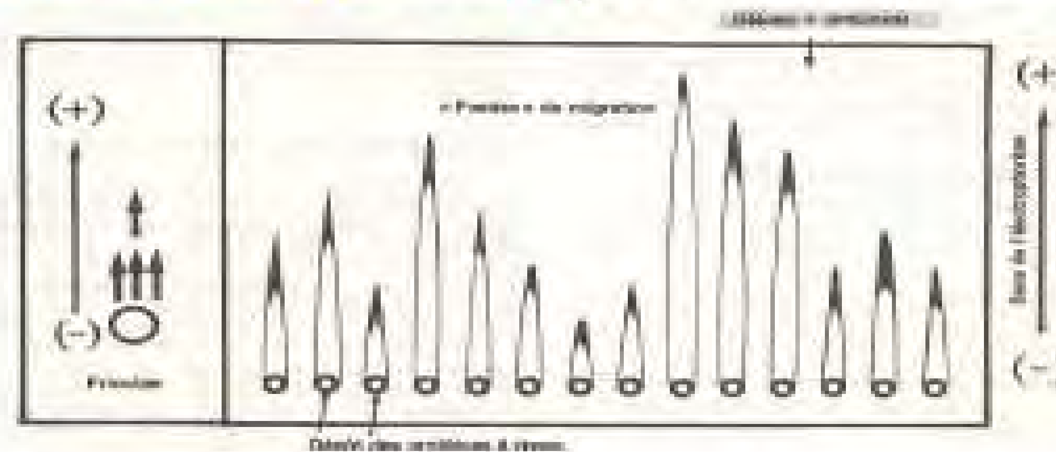
Tâches

Immunoprécipitation

Immunodiffusion radiaire (IDR)



Electroimmunodiffusion (techn. de LAURELL)



On dépose de protéines antigéniques dans des puits creusés contenant l'antisérum. Les précipités triangulaires sont proportionnels à la quantité d'antigène.

LES PRINCIPALES PROTEINES PLASMATIQUES

Principales protéines plasmatiques

Classes	Protéines	Concentration (g/l)
	Préalbumine Albumine	0,3 40
α1 globulines	α1-antitrypsine α1-glycoprotéine	2,9 1,0
α2-globulines	Haptoglobine α2-macroglobuline Céruléoplasmine	0,5 - 1,5 2 - 3,5 0.2 - 0.4
β-globulines	Transferrine LDL Complément C3	3,0 1,0 1,0
γ-globulines	IgG IgA IgM IgD IgE	14,0 3,5 1,5 0,03 trace

L'étude des protéines plasmatiques.

- Paramètres importants: « carte d'identité »
  - Masse moléculaire
  - « Forme moléculaire »
  - Lieu de synthèse
  - Lieu de catabolisme
  - ½ vie de la protéine
  - Les variations de tous ces paramètres lors de pathologies
  - Sa fonction ou son rôle de marqueur.

1. Le groupe des albumines

1.1. LA PRE ALBUMINE,RBP

- Ce complexe appartient aux fractions protéiques mineures (<1 % des protéines).
- Il est le plus anodique à l'électrophorèse (migre le plus vite).

1.1. Propriétés

- ## 1.1.1. Physico-chimiques

Ce sont des holoprotéines (ce ne sont donc pas des glycoprotéines)

Elles sont très riches en tryptophane

Ce sont des protéines de petite taille PA=55kDa.

- ## 1.1.2. Métaboliques

Leur synthèse est hépatique.

Le zinc est indispensable à la synthèse de RBP.

Leur 1/2 vie biologique est très courte < à 12h.

1.1.3. Biologiques : fonctions de transport plasmatique

- **La pré-albumine** Fixation et transport des hormones thyroïdiennes (T3 > T4). On l'appelle alors TBPA (thyroxin binding prealbumin) ou transthyretine.

- **La RBP** Se combine à la pré albumine, ce complexe assure la fixation et le transport plasmatique de la vitamine A (rétinol) .

Le complexe PA-RBP se dissocie en deux composantes quand le rétinol est capté par les cellules cibles

1.2. Valeur sémiologique

- **1.2.1. Méthodes de dosage**

  -Le dosage se fait par immuno-néphélométrie (IN)

  - Immuno-diffusion radiale (IDR).

- **1.2.2. Valeur sémiologique et variations physiologiques**

  PA : 100 à 400 mg/l

  RBP : 35 à 90 mg/l

1.2.3. Variations pathologiques

- **Valeurs 2 fois plus faibles chez l'enfant.**
- **PA et RBP sont des marqueurs de dénutrition, ils sont plus sensibles que l'albumine (Alb) ou la transferrine (Tf).**

a/ Variations de PA

- Diminution au cours des :

  - états inflammatoires aigus .
  - néoplasies (cancers)
  - hépatopathies atteintes rénales et digestives

- Augmentation dans :

  - maladie de Hodgkin
  - les traitements hormonaux par corticostéroïdes, androgènes anabolisants, oestroprogestatifs

b/ Variations de la RBP

- Diminution au cours des:
  - états de malnutrition protéique
  - insuffisances hépatiques (diminution de synthèse)
  - carences en zinc
  - carences en vitamine A = avitaminoses A

- Augmentation dans :
  - les néphropathies chroniques (surtout les protéinuries tubulaires)

2.1. Albumine (Sérum-Albumine)

C'est la protéine majeure du plasma : 55-60 % des protéines totale

2.1.1. Physico-chimiques

- C'est une holoprotéine.
- Sa taille est relativement faible: 564 AA,
- Sa structure est uni peptidique et globulaire .
- Richesse en certains AA (Glu (10% des AA), Asp, Val, Leu, Lys)

- presente une fonction thiol (sur un résidu cystéine) libre qui lui permet la fixation de différents ligands .

- Son pH isométrique est bas: pHi=4,7 ce qui explique qu'elle migre rapidement à l'électrophorèse

2.1.2. Métaboliques

- Sa synthèse est active (10 à 12 g/j), principalement au niveau du foie.
- Sa 1/2 vie biologique est de 15 à 19 jours.
- Son catabolisme est effectué dans tous les tissus par pinocytose et hydrolyse dans les lysosomes (par des enzymes protéolytiques).
- Elle est non filtrée par le rein, se traduit en pathologie par une albuminurie

2.1.3. Biologiques

a / Maintien de la pression oncotique (Ponc) du plasma.

La Ponc développée par la sérumalbumine est négligeable par rapport à la Ponc développée par les électrolytes

Cette Ponc va permettre le contrôle des échanges d'eau entre secteur vasculaire et secteur interstitiel

b/ Transport plasmatique de ligands variés

L'albumine est un transporteur non spécifique

1/ de ligands D'origine endogène:

- ions organiques ou inorganiques
- bilirubine
- acides gras non estérifiés (5% des acides gras)
- hormones thyroïdiennes (T3>T4) et stéroÏdes
- glucose

2/ D'origine exogène:

- médicaments
- colorants (à l'origine d'une méthode de dosage): bleu Evans, vert de bromocrésol :BCG
- vitamine C, iode

La fixation aux ligands est en général solide mais non covalente. Ceci permet à la fixation d'être réversible

2.2. Valeur sémiologique

- **2.2.1. Méthodes de dosage**
- Méthode directe

- Colorimétrique:
  Affinité de l'albumine .Exemple: vert de bromocrésol (BCG)
- Immunochimique:
  Utilisatron d'anticorps mono spécifiques anti-albumine et en immuno-diffusion radiale.

- Méthode indirecte par estimation

Cette méthode est moins spécifique
- électrophorèse des protéines sériques .
- dosage des protéines totales

2.2.2. Valeur normale et variations physiologiques

- Valeur normale

L'albumine représente 55 à 60% des protéines sériques soit 40-45 g/1.
L'albuminémie chez l'homme est 5% supérieure à celle chez la femme.

- Variations physiologiques

- nouveau-né: 30 g/1

- grossesse: diminution d'environ 25% par hémodilution et stabilisation à la limite inférieure de la normale .

- sujet âgé après 60 ans: diminution à 30-35 g/l

2.2.3. Variations pathologiques

- **Anomalies acquises**

  Elles se font surtout dans le sens des hypoalbuminémies

- Hypo-albuminémies :

  1- carence d'apport protéique

  . carence nutritionnelle: cachexie, cancer

  . troubles de l'assimilation digestive, malabsorption intestinale

  2- diminution de la synthèse : insuffisances hépato-cellulaires (IHC)

  . hépatite aiguë grave

  . cirrhose hépatique décompensée

  3- accroissement du catabolisme azoté

  . lésions tissulaires ou traumatismes chirurgicaux

  . états inflammatoires

4-augmentation des pertes :

. par voie rénale : glomérulonéphrites, syndrome néphrotique

. par voie digestive : entéropathies exsudatives, mucoviscidose, syndrome cœliaque

. par voie cutanée : brûlures, eczéma étendu et suintant

5/ Anomalies génétiques

- Analbuminémie de Bennhold: rarissime

Ces individus sont incapables d'assurer la synthèse d'albumine.

Cette affection est bien tolérée.

A l'électrophorèse pas de pic d'albumine.

- Bisalbuminémie héréditaire:

Il y a coexistence de 2 formes d'albumines différentes (2 gènes différents) dont une est variante pour un AA.

La transmission de cette anomalie se fait sur le mode autosomique récessive

MALNUTRITION OU KWASHIORKOR





oedème observé en cas d'hypoalbuminémie exsudation d'eau du plasma vers l'interstitium

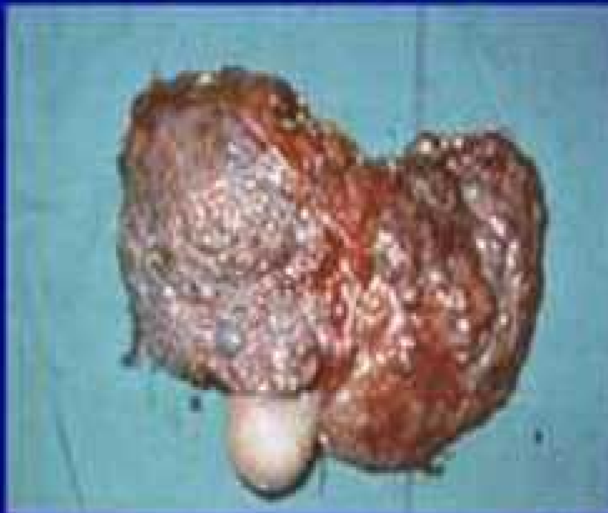




FOIE NORMAL



FOIE CIRRHOTIQUE



Mallat et Lotersztajn



3. Le groupe des globulines

3.1. Les a 1 globulines

C'est un groupe hétérogène et on y trouve :

a 1 antitrypsine,

orosomucoïde,

AFP(a 1 foetoprotéine),

antichymotrypsine,

a 1 lipoprotéine, prothrombine,

transcortine, TBG(thyroxin binding globulin).

3.1.1. a 1 antitrypsine (a 1 AT)

C'est une protéine positive de la réaction inflammatoire (elle est PRI+).

Elle présente une action antiprotéasique :

Un déficit est associé à des pathologies 1/ pulmonaires chez l'adulte

2/ hépatiques chez l'enfant.

3.1.1.1. Propriétés

- **Physico-chimiques**

  L' a 1 antitrypsine est le constituant principal des a 1 globulines , elle en représente 90 % .

  C'est une protéine de petite taille .

  Elle présente une structure unipeptidique (une seule chaîne).

  Son pH isoélectrique (pHi) est de 4,8 ;

  C'est une glycoprotéine qui présente 10 à 12 % de glucides.

Métaboliques

- Sa synthèse est hépatique et sa 1/2 vie biologique est de 5 jours.
- Elle présente un grand polymorphisme génétique .
- Plusieurs gènes sont impliqués dans sa biosynthèse : il existe 23 allèles différents soit 23 génotypes différents.
- Il existe des centaines de phénotypes différents.

Biologiques

- Protéine douée d'action antiprotéasique
- Elle est capable de se lier aux enzymes protéolytiques pour les inactiver.
- S'il existe un déficit en a 1 antitrypsine, les enzymes protéolytiques peuvent dégrader les tissus : cela explique les pathologies pulmonaires lors du déficit de la protéine.
- protéine de la réaction inflammatoire , elle est PRI+ et participe à la réaction inflammatoire locale.

Valeur sémiologique

a/ Méthodes de dosage

- par méthode indirecte : électrophorèse + protéines totales

- par méthode directe :
  . mesure du pouvoir antiprotéasique du sérum
  . dosage par méthode immunochimique (immunodiffusion radiale (IDR) ou immunonéphélémétrie (IN)

Valeurs normales et variations physiologiques

- Les valeurs usuelles se situent entre 1,9 et 3,5 g/l.
- Cela augmente pendant la grossesse et lors de la prise d'oestroprogestatifs.

Variations pathologiques.

- **Diminution** : le déficit en a 1 antitrypsine

En pathologie pulmonaire : chez un adulte jeune (30-40 ans)
Hétérozygote Z ?: prédisposé à la bronchite chronique
Homozygote ZZ : emphysème pulmonaire avec destruction de la structure des alvéoles pulmonaires .
La transmission est autosomique récessive
L'incidence est de :1/5000

En pathologie hépatique : chez un enfant en bas âge
Sujets homozygotes ZZ : cirrhose hépatique infantile (remaniement fibreux du tissu hépatique).
La transmission est autosomique récessive.

- **Augmentation :**

Lors de la phase aiguë de la réaction inflammatoire

3.2. Orosomucoïde ou a 1 glycoprotéine acide

- ## 3.2.1. Propriétés

Physico-chimique

Protéine à caractère très acide : pHi=2,5.

La migration est rapide vers l'anode mais moins vite que l'albumine .

Protéine de faible masse moléculaire : 41kDa.

C'est une glycoprotéine avec 40% de glucide

- **Métaboliques**

La synthèse et le catabolisme sont hépatiques.

- **Biologiques** (rôle mal connu)

C'est une protéine de la phase aiguë de la réaction inflammatoire (PRI+) et elle aide au transport plasmatique de la progestérone et de certains médicaments.

3.2.2. Valeurs sémiologiques

3.2.2.1. Méthode de dosage

- Immunochimie (IN et IDR)

3.2.2.2. Valeur normale

0,55 à 1,4 g/l

3.2.2.3. Variations pathologique

- • Diminution :
  - états de malnutrition
  - insuffisances hépatiques sévères
  - syndrome néphrotique
  - entéropathies exsudatives
- • Augmentation :
  - réaction inflammatoire aiguë (rhumatisme articulaire aigu chez l'enfant),
  - lésions tissulaires (infarctus du myocarde)
  - certaines néoplasies malignes

Comme l'orosomucoïde augmente lors de la réaction inflammatoire et lors de certains cancers,

le suivi de cette protéine est intéressant pour juger de l'efficacité d'une antibiothérapie anti-inflammatoire ou d'une chimiothérapie anticancéreuse (si on observe une diminution du taux de la protéine, cela veut dire que le traitement est efficace

3.3. Les a 2 globulines

3.3.1. Haptoglobine

C'est une protéine de la réaction inflammatoire, elle est PRI+.

Son taux peut s'effondrer au cours des hémolyses intra-vasculaires

3.3.1. Propriétés

Physico-chimiques

-L'haptoglobine (Hp) est une glycoprotéine qui comporte 19% de glucides.

-Son pHi est de 4,2 il est du à une richesse en acide aspartique et acide gluconique.

Il existe deux formes possibles pour la protéine :

- Forme monomérique : 4 sous unités comprenant 2 chaînes a et 2 chaînes b (a 2 b 2) .

- Forme oligomérique : constituée de monomères complets ou partiels .

Métaboliques

La synthèse est **surtout hépatique**

La 1/2 vie biologique **est de 3 à 5 jours**.

Le catabolisme se fait dans **les hépatocytes et dans les macrophages.**

Biologiques

- Combinaison à l'hémoglobine :

- Le complexe Hb/Hp **(hémoglobine/haptoglobine)** .

En cas d'hémolyse l'hémoglobine libérée est captée par l'haptoglobine **et la fixation est irréversible,**

- le complexe Hb/Hp est **donc épuré dans le système réticulo-endothélial.**
- La 1/2 vie biologique de ce complexe est très courte **: moins de 20 minutes.**

- Protéine la **réaction inflammatoire : PRI+**

- **3.3.1.2. Valeur sémiologique**

Méthode de dosage

Immunochimie (IN)

Valeurs normales et variations physiologiques

- valeurs normales

0,5 à 1,5 g/l chez les adultes (valeurs supérieures de 10% chez la femme par rapport à l'homme en général)

- variations physiologiques

Chez les nouveaux nés on trouve seulement des traces de cette protéine.

Les valeurs adultes sont atteintes à 6 mois.

3.3.1.3. Variations pathologiques

- Diminution :

- insuffisances hépatiques (cirrhose)
- hémolyse intra-vasculaire (effondrement du taux d'haptoglobine)
- déficit congénital : anhaptoglobinémie (rare, chez 3% des noirs).

- Augmentation : de 2 à 10 g/l soit 4 à 6 fois la normale

- syndromes inflammatoires aigus, subaigus, chroniques protéine PRI+ .
- maladies infectieuses : pneumonie-tuberculose
- néoplasies
- syndrome néphrotique

▪ 3.3.2. a 2 macroglobuline (a 2-M)

C'est une protéine assez abondante dans le sérum.

3.3.2.1. Propriétés

Physico-chimiques

Masse moléculaire=850 kDa,.

C'est une glycoprotéine qui comporte 8% de glucides.

Phi = 5,4

Elle est composée de 4 sous-unités reliées par des ponts disulfures .

- **Métaboliques**

Sa synthèse se réalise **dans le foie** et dans le **système réticulo-endothélial**.
La **1/2 vie** biologique de la forme non complexée est de 5 jours,
alors **après complexassions avec des protéases la 1/2 vie est de 10 minutes**.

Il existe un polymorphisme génétique pour cette protéine.

- **Biologiques**

L'a 2 macroglobuline peut se lier avec diverses molécules : ions, hormones (insuline).

3.3.2.2.Valeur sémiologique

Méthode de dosage

Immunochimie (IN et IDR).

Valeurs normales et variations physiologiques

- Adultes : 1,5 à 3,5 g/l (supérieur de 10% chez les femmes)
- Nouveaux-nés : 5g/l (valeurs plus élevées de 50% environ).

  Le maximum est atteint vers 1 à 3 ans,

  puis diminution progressive avec stabilisation à 25 ans.

  Jusqu'a 15 ans les valeurs sont supérieures aux adultes.
- Après 70 ans : augmentation légère

3.3.2.3.Variations pathologiques

L'intérêt clinique est assez limité et on ne trouve **que des augmentations**.

- **Dans le syndrome néphrotique** : (jusqu'a 20 à 30 g/l) .
- **Dans l'inflammation aiguë (PRI+)** :

augmentation moins nette que CRP (C réactive protéine), orosomucoïde ou haptoglobine.

- Augmentation lors de **la grossesse et la prise de contraceptifs oraux**.

3.4. Les g globulines ou immunoglobulines ou anticorps

- ## 3.4.1. Définition

Ce sont des **glycoprotéines**.

Elles migrent à l'électrophorèse dans la zone globuline.

Ce sont les agents **de l'immunité humorale**,

Ce sont des protéines douées d'activité **anticorps.**

Elles sont synthétisées par **des cellules spécifiques** qui sont dans **la moelle osseuse** : les plasmocytes, dérivant des **lymphocytes B activés**.

Cette synthèse est secondaire au contact de l'organisme avec une substance étrangère: antigène ou immunogène.

Ces anticorps sont produits et sécrétés dans la circulation générale.

**** La réponse immunitaire est spécifique****

une immunoglobuline (Ig) est spécifique de l'antigène (Ag) qui a déclenché sa synthèse.

****La spécificité est le plus souvent absolue****.

3.4.2. Structure générale des immunoglobulines

- **3.4.2.1. Chaînes lourdes et chaînes légères**

L'unité de base d'un Ac (monogène d'Ig) comprend 4 chaînes polypeptidiques:
- 2 chaînes lourdes identiques (**chaînes H pour Heavy).**
- 2 chaînes légères identiques (**chaînes L pour Light).**

La strucure générale est du type H2L2.

Au microscope électronique, **ces Ig se présentent sous la forme d'un Y** avec un axe de symétrie entre les 2 chaînes lourdes (donc la molécule est symétrique).

Les chaînes lourdes

Leur nature varie selon la classe et la sous classe d'Ig.
Chaque chaîne lourde est constituée **de 450 AA**,
Les deux chaînes lourdes sont reliées entre-elles:

- par des liaisons covalentes: un ou plusieurs ponts disulfures. Cette liaison est située dans la zone charnière.
- par de nombreuses interactions non covalentes qui stabilisent aussi l'ensemble (liaisons ioniques, hydrogène...).

Les chaînes légères

les **deux chaînes légères sont identiques** entre-elles.
Elles **sont du type k ou l**, commun à toutes les classes d'Ig: Ig G, M, A, D, E.

Chaque chaîne légère est reliée à une chaîne lourde:

- **par un pont disulfure** inter caténaire (entre l'extrémité carboxylique de la chaîne légère et la région charnière de la chaîne lourde).
- par **de nombreuses liaisons non covalentes**.

On distingue deux caractéristiques principales à cette structure de base:

- la grande **stabilité** de la molécule H2L2.
- la grande **flexibilité** des chaînes lourdes (au niveau de la zone charnière).

En effet, le **Y a un angle d'ouverture** très variable, **de 0 à 180°.**

sites de combinaison à l'antigène

régions charnières

chaîne légère L

chaîne légère L

chaînes oligosaccharidiques

chaîne lourde H

chaîne lourde H

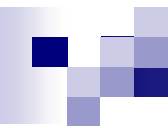
NH_2 NH_2 NH_2 NH_2

S—S S—S S—S S—S

CHO CHO CHO CHO

COOH COOH COOH COOH





3.4.2.2. Autres composants :

Les chaînes **oligosaccharidiques**

Les Ig sont des **glycoprotéines.**

Les chaînes lourdes contiennent sur leur partie carboxy terminale des chaînes oligosaccharidiques (glycanniques) en nombre variable (1 à 7) selon la classe.

Les chaines de jonction ou chaînes J On les trouve dans la classe **des Ig A et M**. **Elles permettent la polymérisation de l'unité de base.**

On **a donc le motif (H2L2)n**.

Le degré de polymérisation est: **n=2 pour les Ig A** et **n=5 pour les Ig M**.

3.4.2.3. Les domaines d'Ig

- Au sein de chaque chaîne lourde et chaque chaîne légère, il **existe des ponts disulfures intracaténaires** qui obligent la séquence d'AA à se replier sur elle-même en des **boucles peptidiques de 60 à 70 résidus d'AA.**

- Chaque boucle représente **la partie centrale d'une région globulaire comprenant 110 AA;** cette région est appelée **domaine**.

- Le **nombre de domaines varie** selon la classe et le type d'Ig:
  - sur chaque **chaîne lourde: 4 à 5 domaines**
  - sur chaque **chaîne légère: 2 domaines**.

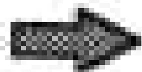
NH_2

COOH

Domaine V_L

Domaine C_L


= pont disulfure


= orientation des segments

3.4.2.4. Variabilité des chaînes

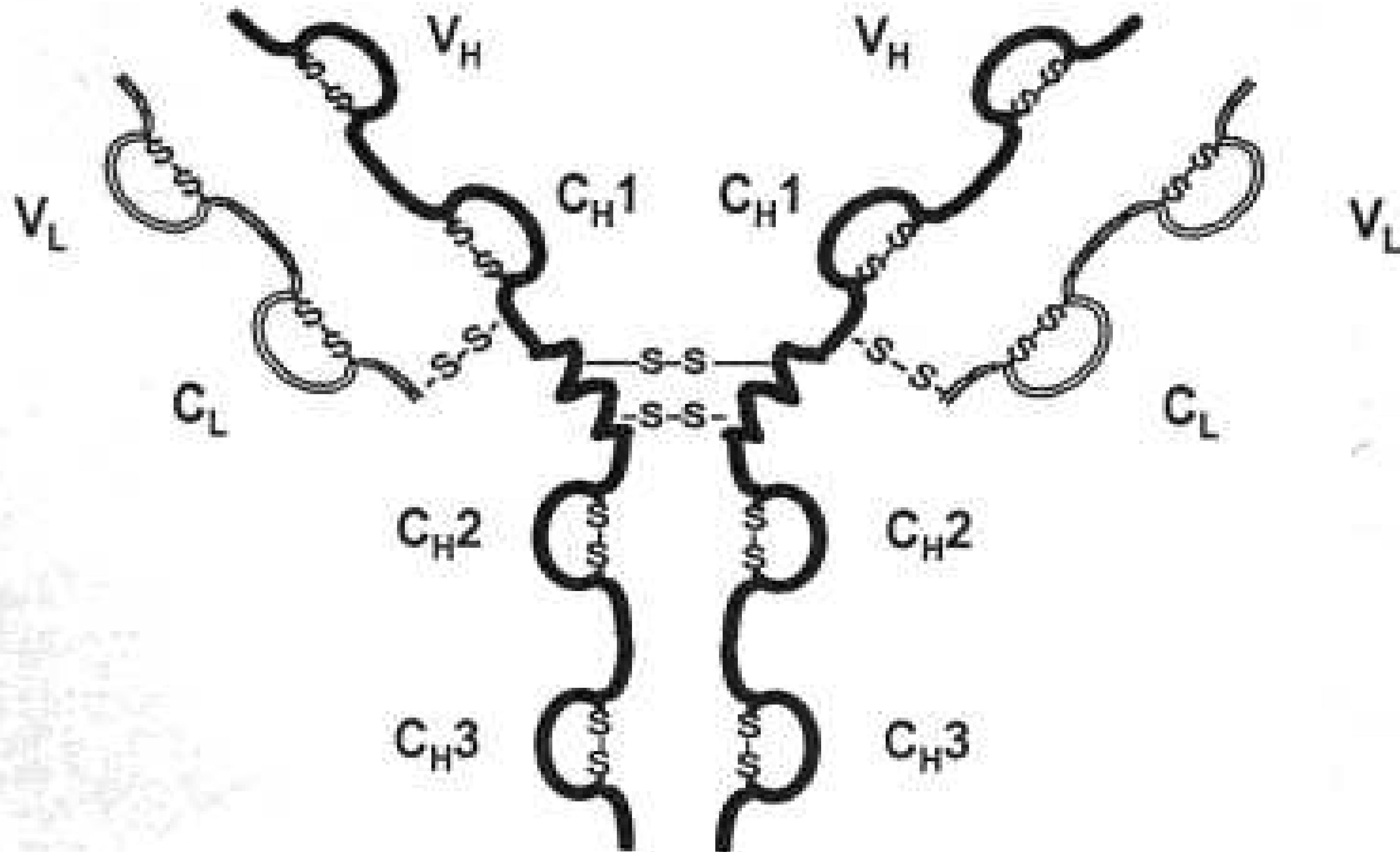
- Quand on compare les chaînes lourdes entre-elles ou les chaînes légères entre-elles, les séquences en AA sont partiellement différentes.

- Les différences sont localisées dans la région N terminale de ces chaînes; ces régions sont en conséquence dénommées régions variables ou V.

- Les régions C terminales ont une structure relativement conservée : elles sont de ce fait appelées régions constantes ou C.

- **Cas des chaînes légères**: on constate deux domaines de longueur équivalente:
  - 1 domaine variable N terminal appelé VL (pour Variable Light)
  - 1 domaine constant C terminal appelé CL (pour Constant Light).

- **Cas des chaînes lourdes**: on constate 4 à 5 domaines de longueur équivalente:
  - 1 domaine variable N terminal appelé VH (pour Variable Heavy)
  - 3 à 4 domaines constants C terminaux appelés CH (pour Constant Heavy).



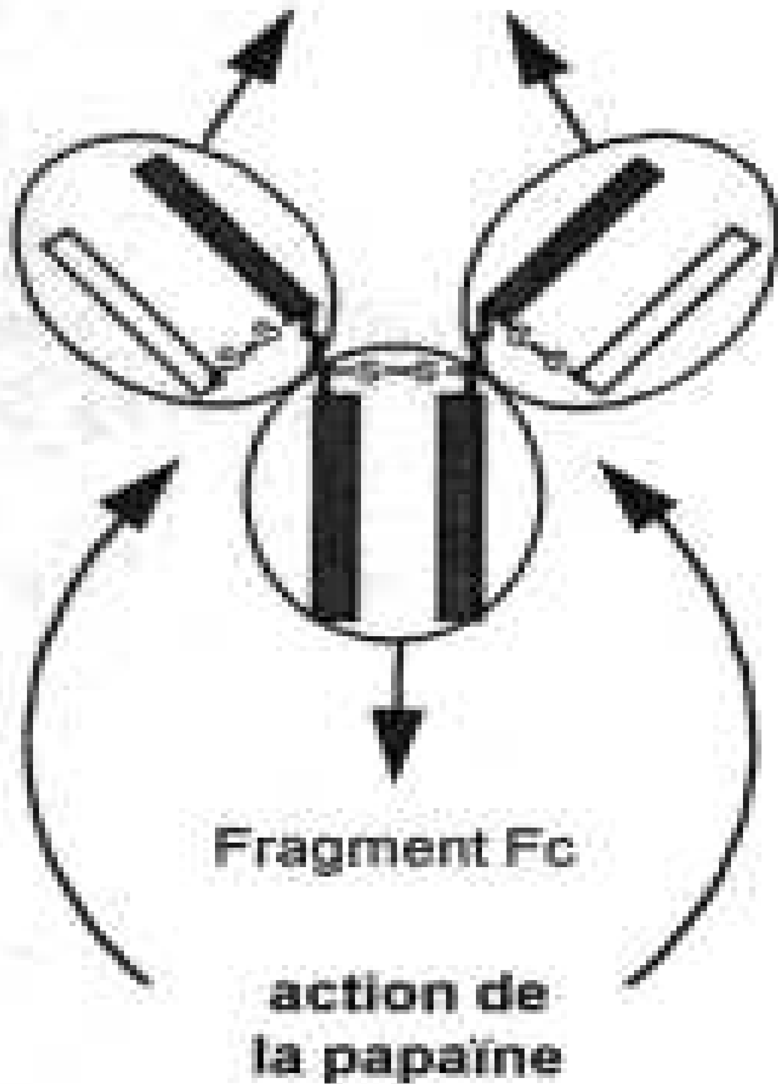
V H
V H
V L
V L
C H 1
C H 1
C L
C L
C H 2
C H 2
C H 3
C H 3
-S-S-
-S-S-

3.4.2.5. Dualité structurale et fonctionnelle des Ig

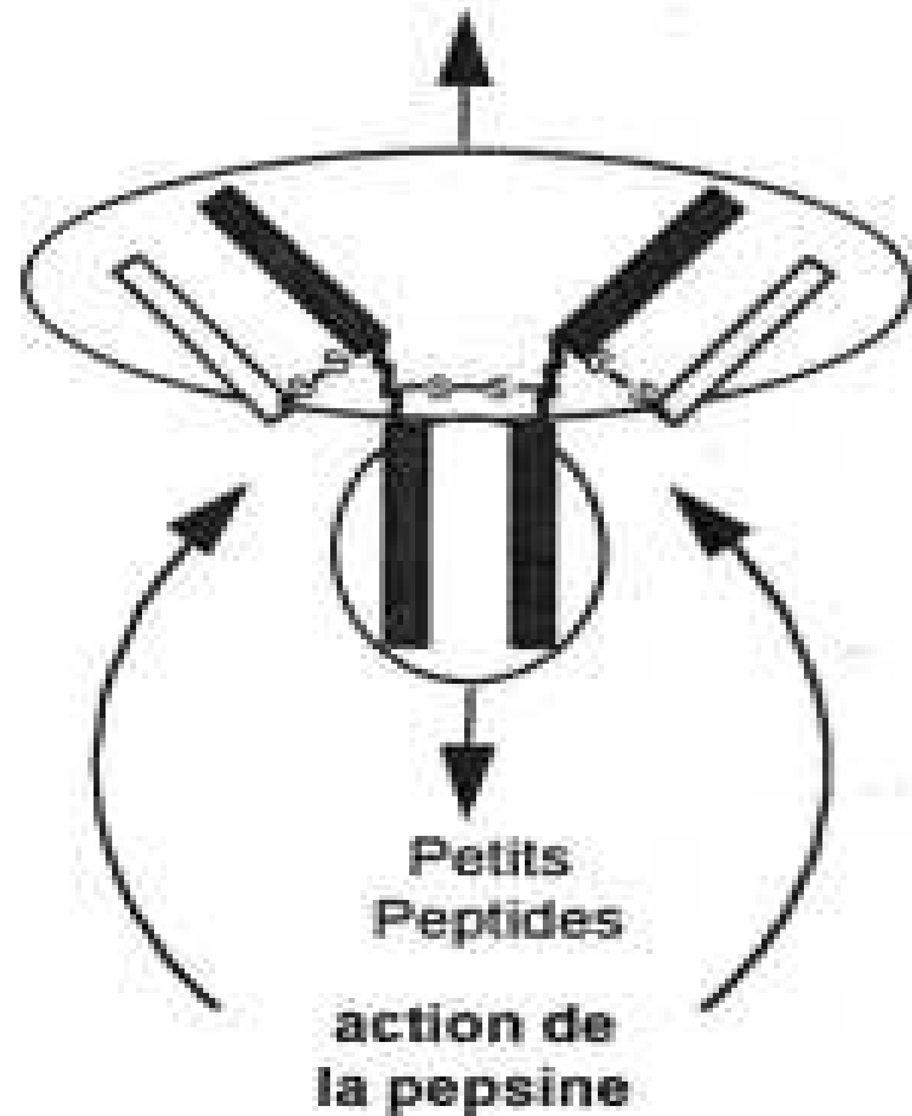
Les Ig peuvent faire l'objet d'un clivage sous l'action d'enzymes protéolytiques (comme la papaïne d'origine végétale et la pepsine d'origine animale).

Les principaux résultats sont obtenus avec la papaïne; on assiste à une scission de l'Ig en 3 fragments de 50 Kda environ:

- 2 fragments Fab identiques
- 1 fragment Fc.



Fragments Fab
Fragment Fc
action de
la papaïne



Fragment (Fab')2
Petits
Peptides
action de
la pepsine

- **Les fragments Fab** (ab pour "Ag-Binding") correspondent à la moitié N terminale d'une chaîne lourde reliée par un pont disulfure à une chaîne légère.

  Ils ont la propriété de se lier à l'Ag mais sont univalents càd ils ne possèdent qu'un seul site de fixation antigénique.

  Le site de liaison à l'Ag Fab est constitué:
  - du domaine variable d'une chaîne légère (VL)
  - du domaine variable d'une chaîne lourde (VH)

- **Le fragment Fc**

  cristallise facilement et correspond à deux moitiés C terminales de chaînes lourdes reliées entre-elles par au moins un pont disulfure.

3.4.3. Classes et sous -classes

- **C 'est la nature de la chaîne lourde d'une immunoglobuline qui détermine sa classe et éventuellement sa sous classe.**

- Chez les mammifères par exemple existe 5 classes d'Ig (immunoglobulines) qui correspondent à un type différent de chaîne lourde :

- Ig G: chaîne lourde de type g (Gamma)

- Ig A : chaîne lourde de type a (Alpha)

- Ig M : chaîne lourde de type m (Mu)

- Ig D : chaîne lourde de type d (Delta)

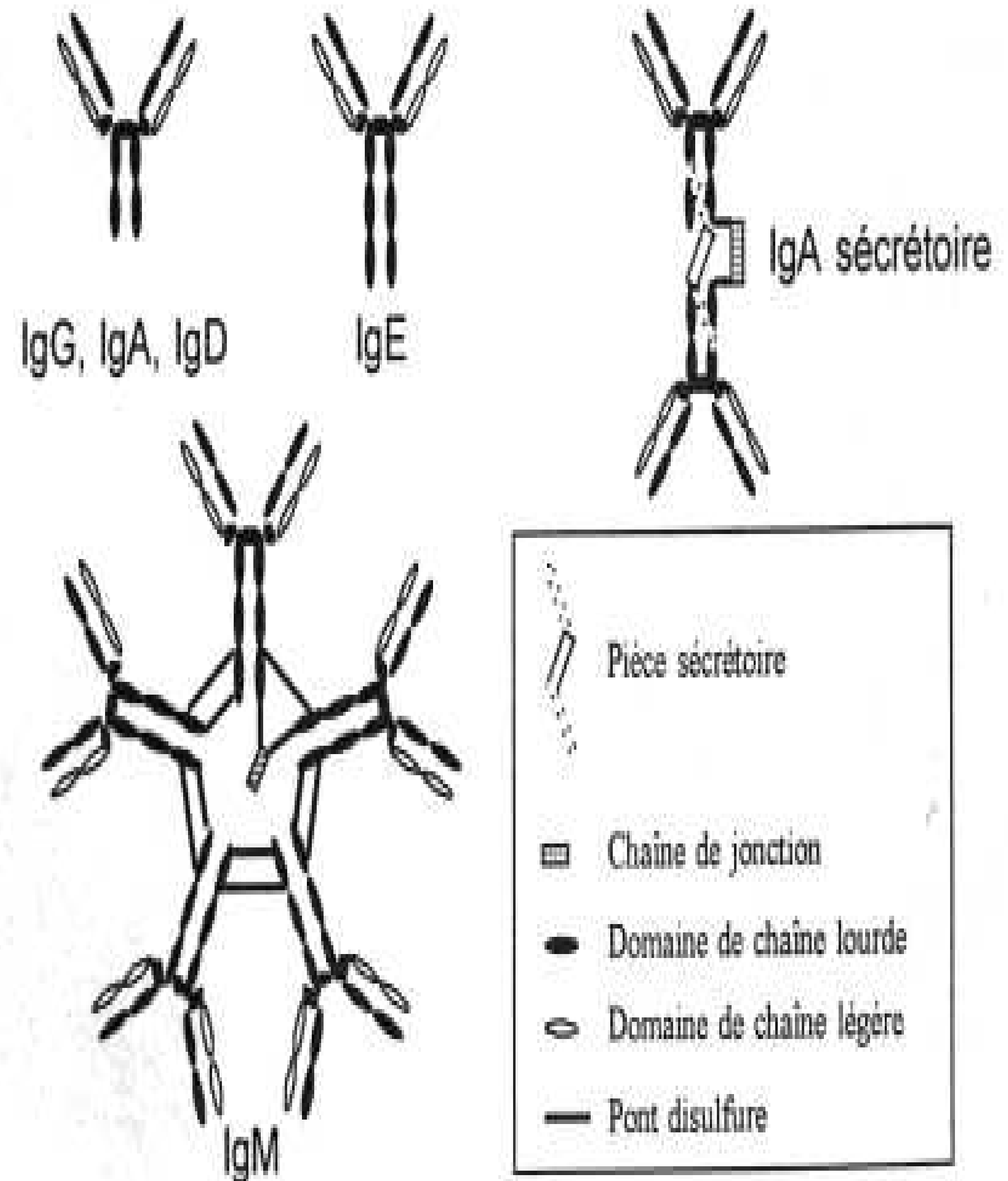
- Ig E : chaîne lourde de type e (Epsylon)

. **Ig A, G et D** obéissent aux mêmes lois de structures de base avec 2 domaines dans chaque chaîne légère et 4 dans chaque chaîne lourde.

. **IgE** possède un 5ème domaine côté COOH terminal.

. **Ig A** peut exister sous forme de **dimère** quand elle est sécrétoire.

. **Ig M** est **un pentamère**, la polymérisation se fait par des ponts disulfures, chaque sous unité est constituée de 5 domaines sur sa chaîne lourde.



- **3.4.3.1. Classe des Ig G**

Les **Ig G** représentent les 3/4 des Ig totales chez l'homme.
Teneur sérique : 8 à 16 g/l
Masse moléculaire: 150 Kda
Coefficient de sédimentation: 7 S
Il existe 4 sous classes d'Ig G (1 à 4) qui diffèrent par leurs propriétés physico chimiques.

- **3.4.3.2. Classe des Ig A**

- Les Ig A représentent le second groupe d'Ig (15 à 20% des Ig totales) soit 2 à 4 g/1.

- C'est la classe prépondérante des anticorps dans les diverses sécrétions exocrines de l'organisme : respiratoires, salivaires, digestives, cervicales, les larmes, le lait, le colostrum.

- Ce sont des dimères et les Ig A sécrétoires ont un rôle anti-bactérien et anti-virale.

- Dans le plasma ce sont des monomères H2L2.

- **3.4.3.3. Classe des Ig M**

- C'est la classe principale d'anticorps produite par le lymphocyte B au cours du développement embryonnaire, puis il y a diminution de cette importance après la naissance.

  Ces Ig M sont produites en majorité lors de la réaction immunitaire primaire c'est à dire lors du premier contact entre l'antigène et l'organisme.

- **Il existe 2 formes moléculaires d'Ig M**

1- La forme monomère H2L2 qui n'est pas sécrétée mais reste membranaire sur le lymphocyte qui l'a synthétisé.

2- La forme pentamère qui est la forme circulante sous laquelle les Ig M sont sécrétées.

Elle est formée de 5 monomères de base associés par des ponts dissulfures au niveau des fragments Fc voisins.

Une chaîne de jonction relie les fragments FC extrêmes ce qui confère à l'Ig M une forme circulaire.

La chaîne lourde possède 5 domaines (4 constants et 1 variable). Glucides: 10 à 12%.

Teneur moyenne dans le sérum chez l'adulte: 0.5 à 2 g/l soit 5 à 10% des Ig totales

- **3.4.3.4. Classe des Ig D**

- Les Ig D représentent moins de 1% des Ig totales.
- Ce sont des Ig de surface présentes sur la majorité des lymphocytes B qui les ont synthétisé (rôle de récepteurs d'antigènes).

- Il existe également une forme circulante.
- Ce sont des monomères de type H2L2.

9 à 14% de glucides.

0.05 à 0.4 g/1Ldans le sérum.

3.4.3.5. Classe des Ig E

La structure monomérique est classique de **type H2L2**.

La chaîne lourde possède **1 domaine variable** et **4 domaines constants**

Teneur en glucides: **12%**.

Teneur dans le sérum: **0.1 à 1 mg/1**.

Ce sont des protéines **trace**.

Elles ont un rôle:
- Dans la réaction **allergique d'hypersensibilité immédiate** (asthme, urticaire, rhume des foins).
- Dans **l'immunité anti-parasitaire.**

Cinétique des différentes immunoglobulines en période prénatale et chez le nouveau né.

- **a) Prélèvement de sang du foetus dans les derniers mois de grossesse :**

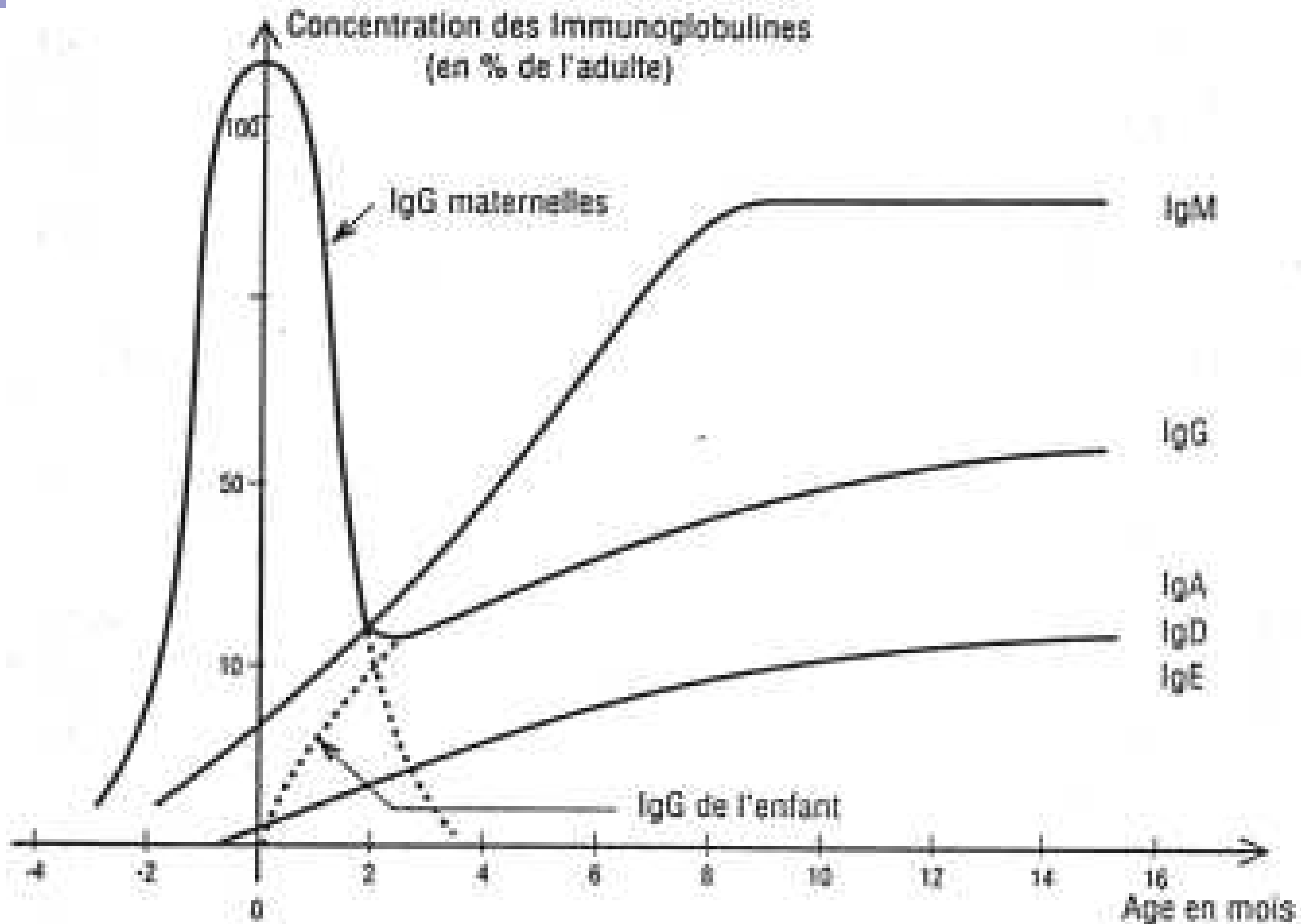
  - La teneur en d'Ig G augmente jusqu'à la naissance où elle atteint son max Mais ce stock à la naissance provient essentiellement de la mere. car les Ig G sont les seuls capables de passer la barrière placentaire.

  - Les IgM qui sont moins nombreuses sont elles d'origine fœtale.

  - On ne trouve ni Ig A ni Ig D ni Ig E.

- **b) Prélèvement à la naissance:**

  - Il y a diminution des Ig G d'origine matemelle (1/2 vie d'environ 3 semaines) mais la production d'Ig G démarre dès la naissance et compense cette chute.
  - La production des Ig M se poursuit jusqu'à atteindre un plateau vers le 6 ème mois.
  - La production des autres Ig augmente progressivement.


Concentration des Immunoglobulines
(en % de l'adulte)
100
50
10
IgG maternelles
IgM
IgG
IgA
IgD
IgE
IgG de l'enfant
-4
-2
0
2
4
6
8
10
12
14
16
Age en mois